

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**UNIDAD DE POST-GRADO**

**Variación de la concentración de metanol en cadáveres  
en función al tiempo**

**TESIS**

**Para optar al grado académico de Magíster en Toxicología**

**AUTOR**

**Amadeo Collado Pacheco**

**ASESOR**

**Dr. Mario Carhuapoma Yance**

**Lima-Perú**

**2012**

## INDICE

Dedicatoria .....	i
Agradecimiento .....	ii
Índice .....	iii
Resumen .....	iv
Summary .....	v
<b>I. Introducción</b> .....	1
<b>II. Hipótesis</b> .....	2
2.1.- Variables .....	2
2.2.1.- Variable dependiente.....	2
2.2.2.- Variable independiente.....	2
<b>III. Generalidades</b> .....	3
3.1.- Metanol .....	3
3.2.- Toxicocinética del metanol .....	4
3.2.1.- Exposición .....	4
3.2.2.- Absorción del metanol .....	4
3.2.3.- Distribución del metanol .....	4
3.2.4.- Metabolismo del metanol .....	5
3.2.5.- Eliminación del metanol .....	6
3.3.- Toxicodinamia del metanol.....	6
3.4.- Manifestaciones clínicas.....	9
3.4.1.-Toxicidad aguda .....	9
3.4.1.1- Ligero .....	9
3.4.1.2.- Moderada ..	9
3.4.1.3- Grave .....	9
3.4.2.-Toxicidad crónica .....	10
3.5.- Datos del laboratorio y diagnostico .....	10

3.6.- Importancia médico legal del metanol .....	10
3.6.1. Importancia médico legal de la embriaguez.....	10
3.6.2. Dosis Tóxica.....	11
3.6.3. Muerte por intoxicación del metanol .....	12
3.7.- Variación <i>post mortem</i> del metanol .....	12
3.7.1.- Efecto de la temperatura.....	12
3.7.2.- Efecto del tiempo .....	12
3.7.3.- Efecto del preservante .....	13
3.8.- Cromatografía .....	13
3.8.1.- Cromatografía de gases .....	13
3.8.2.- Gas portador.....	15
3.8.3.- Inyector .....	15
3.8.4.- Columnas .....	15
3.8.5.- Detectores .....	16
<b>IV. Parte experimental .....</b>	<b>18</b>
4.1.- Población y/o muestra .....	18
4.2.- Método.....	18
4.3.- Técnicas, instrumentos y procedimientos .....	19
4.3.1.- Recolección de muestras .....	19
4.3.2.- Procesamiento de la muestra .....	20
4.3.3.-Tecnica operatoria.....	20
4.4. Procesamiento y análisis de datos .....	21
4.5. Materiales.....	21
4.5.1. Equipos .....	21
4.5.2. Reactivos .....	21
4.5.3. Materiales .....	22

4.5.4. Condiciones de trabajo .....	23
4.5.5. Parámetros analíticos .....	23
4.5.6. Análisis de la muestra .....	23
V. Resultados .....	24
VI. Discusión .....	30
VII. Conclusiones.....	33
VIII. Recomendaciones.....	34
IX. Referencias bibliográficas .....	35
X. Anexos.....	38
Anexo N° 1: Flujograma del proceso .....	39
Anexo N° 2: Flujograma del procesamiento de muestras .....	40
Anexo N° 3: Curva de calibración del metanol .....	41
Anexo N° 4: Tabla de resultados .....	42
Anexo N° 5: Tabla de resultados.....	44
Anexo N° 6: Tabla de resultados.....	44
Anexo N° 7: Tabla de resultados .....	45
Anexo N° 8: Tabla de resultados .....	45
Anexo N° 09: Toxicidad del metanol .....	46
Anexo N° 10 : Of. Sub-Gerente del LATOQUIL brindando facilidades para trabajo de investigación .....	47

## DEDICATORIA

**A Dios Todo Poderoso** por ser mi norte,  
mi parte espiritual, mi cayado y ser todo para mí.  
Gracias a él quien nos guía en todo momento  
dándonos fuerzas en la dura tarea de hacernos  
buenos hombres ante la sociedad .

A mi amada esposa **NERY ROSSANA VILLENA OLIVERA**,  
y mis queridos hijos **SUSAN LUCCIA COLLADO VILLENA**,  
**JHONABEL AMADEO COLLADO VILLENA** y **SONIA**  
**MARIA COLLADO RAMIREZ**, por su apoyo invaluable  
y ser el estímulo constante para realizarme como esposo,  
padre y buen hombre; todo esfuerzo queda justificada al ser  
correspondido con una linda familia como la que tengo yo,  
solo me queda agradecerles y decirles que los amo mucho.

A mis amados padres **Benito Isaías Collado Navarro**  
y **Zenaida Pacheco Tello (Q.E.P.D.)** quienes con su  
perseverancia y tesón de buenos docentes me supieron  
inculcar el amor al estudio dando buenos resultados  
al formar mi carácter impetuoso en lo intelectual haciéndome  
un hombre justo y realizarme como tal,.....los amo.

A mis *alma mater*, **Universidad Particular**  
**Católica Santa María de Arequipa** y  
**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
por sus docentes, por hacer de mi un profesional  
Químico Farmacéutico, especialista en Industria  
Farmacéutica y ahora Magister en Toxicología,  
es ahí donde forme mis conocimientos farmacéuticos  
marcando en mí el amor hacia mi querida profesión.

## AGRADECIMIENTO

A los Señores Doctores miembros jurado calificador:

***Sr. Dr. ROBERT PALOMINO DE LA GALA ..... presidente***

***Sr. Dr. MARIO CARHUAPOMA YANCE..... miembro y asesor***

***Sr. Dr. MESÍAS MOISES GARCIA ORTIZ ..... miembro***

***Sr. Mg. LUIS ALBERTO INOSTROZA RUIZ ..... miembro***

***Sr. Mg. JOSE ALFONSO APESTEGUIA INFANTE ..... miembro***

Por su valiosa colaboración y ser exigentes buenos críticos en el presente trabajo de investigación, lo que conlleva a mejorar la calidad de la tesis sustentada, asimismo, el agradecimiento por su participación como miembros del jurado calificador.

Al ***Dr. MARIO CARHUAPOMA YANCE***, un especial agradecimiento por su gran experiencia y apoyo ofrecido como asesor en el presente trabajo ya que me ayudó a dilucidar las dudas pertinentes propias de todo trabajo de investigación y que esta haya tenido la repercusión esperada que está a la altura de tan brillante profesional.

Al ***Mg. LUIS ALBERTO INOSTROZA RUIZ***, por su aporte en las correcciones, ajustes y orientaciones en los diversos temas relacionados al presente trabajo de investigación, solo me queda agradecerle de todo corazón.

## **RESUMEN**

La determinación del metanol en sangre se ha convertido en una de las prácticas analíticas forenses de rutina en los últimos años en el Laboratorio de Toxicología y Química Legal del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima - Ministerio Público, Fiscalía de la Nación, debido a que su consumo se ha incrementado por presentar los mismos efectos que el etanol a un costo muy bajo, sin embargo en la práctica se puede apreciar que en algunos casos hay variaciones en los resultados obtenidos en nuestro laboratorio en relación con otros laboratorios del medio que también realizan análisis del metanol.

En el presente trabajo se determinó la concentración de metanol en sangre de los casos de cadáveres en los que se sospechaba de consumo de alcohol metílico, a los cuales se les tomó muestras en cuatro tiempos diferentes evaluándose la posible variación que se da en el transcurso de ese tiempo; así también se describen los aspectos relacionados con la toma de las muestras biológicas para el análisis, su correcta preservación, los factores intrínsecos y extrínsecos a la toma de muestras que pueden generar resultados discordantes a la hora de interpretar los resultados, tales como pérdidas y generación de alcohol en el organismo humano.

Para la determinación de la concentración de metanol en sangre se utilizó el método de cromatografía de gases con detector de ionización a la llama (GC-FID). En las 180 muestras analizadas se encontró que la relación de concentración de alcohol metílico no presentó una correlación significativa, por lo que se sugiere que no se debe considerar para hacer cálculos retrospectivos utilizando fórmulas matemáticas con la finalidad de aproximar las posibles concentraciones de alcohol metílico en el momento del deceso, como se pretende hacer en algunos casos a fin de dar un veredicto en casos de litigios de diversa naturaleza.

Palabras clave: Etanol, metanol (alcohol metílico), cromatografía de gases, bebidas alcohólicas.

## SUMMARY

The determination of methyl alcohol in the blood has become one of the analytical forensic practices of routine in recent years in the laboratory of Toxicology and Legal chemistry of Institute of Legal Medicine and Forensic Sciences of Lima, Ministry of Public Prosecutor's Office, Attorney, since its consumption has increased by the same effects as the ethanol and a very low cost but in practice we can see that in some cases there are variations in the results obtained in our laboratory in relation with other laboratories of the way that also realize analysis of blood methyl alcohol level.

In the present work the blood methyl alcohol level decided in the cases of corpses in those who were suspected in consumption of methyl alcohol, which took them samples at four different times evaluating possible variation that occurs over the course of that time; It also describes aspects relating to the taking of the biological samples for analysis, its proper preservation, the factors intrinsic and extrinsic to the taking of samples which can produce results differing when interpreting the results, such as loss and generation of alcohol in the human organism.

For the determination of the blood methyl alcohol level the method of gas chromatography was in use with detector of ionization to the flame (GC-FID). In 168 Samples found that the ratio of concentration of methyl alcohol did not provide a significant correlation, by which he suggests that is should not be considered to make retrospective calculations using mathematical formulae in order to approximate the potential concentrations of alcohol methyl at the time of death, as intended in some cases in order to deliver a verdict in cases of litigation of diverse nature.

**Key word:** Ethanol, methyl alcohol, gas chromatography, alcoholic drinks.



## I. INTRODUCCIÓN

El metanol (alcohol metílico) se ha convertido en los últimos años en un agente de toxicofilia y drogadicción muy difundido y generalizado en nuestro país, actualmente este líquido constituye una sustancia de uso popular en las personas de bajos recursos y en los jóvenes de nuestra sociedad que no distinguen en el daño que produce, pues es altamente tóxica debido a la acción y efectos que produce, convirtiéndose su consumo en un problema de salud y médico legal en el que los químicos farmacéuticos estamos comprometidos directamente, por ser quienes tenemos la labor de determinar la concentración del metanol en sangre a través del análisis del dosaje de alcohol metílico.

El presente trabajo tiene por finalidad hacer un estudio de la variación de la concentración de alcohol metílico en cadáveres a los que se les ha practicado la necropsia de ley en la sede de la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima, para tal fin se tomó la muestra de sangre a los cadáveres<sup>(1)</sup> en tiempos diferentes para determinar la concentración de alcohol metílico y poder verificar si hay o no variación en relación al tiempo que transcurre a partir de la muerte clínica.

Las muestras se deben tomar a una población de 45 cadáveres (180 análisis), las mismas condiciones y momento, es decir:

- Al levantamiento del cadáver.
- A la llegada a la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima.
- En la necropsia de ley.
- Al retiro del cadáver.

Las muestras se procesaron en paralelo según la técnica de “Determinación de alcohol metílico por Cromatografía de Gases con Head Space”. Posteriormente, se hace la discusión de resultados con las consideraciones dadas viendo las probables variaciones de la concentración de alcohol metílico comparándolas con los respectivos tiempos para poder llegar a una conclusión.

El presente trabajo persigue el **objetivo general**: Establecer la variación de la concentración del metanol en función al tiempo en muestras de sangre de cadáveres a los que se les ha realizado la necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima, por el método de cromatografía de gases con detector de ionización a la flama con espacio de cabeza (GC-FID).

Además podemos considerar los siguientes objetivos específicos:

- Comparar las concentraciones del metanol obtenidas en cada muestra de sangre considerando las variaciones de tiempo en cadáveres a los que se les ha realizado la necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima.
- Determinar si hay variación en las concentraciones de metanol obtenidas en cada muestra de sangre considerando las variaciones de tiempo a los que se les ha realizado la necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima.

## II. HIPÓTESIS

“La concentración de metanol varía en función al tiempo en muestras de sangre de cadáveres en las que se ha realizado la necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina legal y Ciencias Forenses de Lima”.

### 2.1. VARIABLES

**2.1.1. Variable dependiente:** concentraciones de metanol en sangre.

**2.1.2. Variable independiente:** sangre, tiempo de toma de muestra y temperatura.

### III. GENERALIDADES

#### 3.1. METANOL

El metanol ( $\text{CH}_3\text{-OH}$ ) es conocido también como alcohol metílico o alcohol de madera es un líquido incoloro, volátil inflamable, con olor aromático en estado puro, tiene sabor muy similar al del etanol, es soluble en agua, alcohol, cetonas y ésteres. Es un compuesto que a concentraciones tóxicas en el cuerpo humano puede producir severos problemas de salud o la muerte sino es tratado oportunamente. <sup>(3)</sup>

Las principales impurezas que se pueden encontrar en el metanol corresponden a sustancias como propanona, acetaldehído, formaldehído, ácido acético, ácido fórmico y agua. <sup>(3)</sup>

Tiene amplios usos a nivel industrial como un subproducto de la fabricación de polímeros y se utiliza como removedor de pinturas, limpia brisas, anticongelante, thinner, lacas, barnices, productos fotográficos, solventes, además como materia prima de manufacturas de plásticos textiles, secantes, explosivos, cauchos, entre otros. Así como en el hogar, sobre todos en los de bajo nivel socio económico, donde se ha utilizado como combustible de bajo costo <sup>(3)</sup>. El alcohol metílico también conocido como alcohol de madera, se produce durante la obtención de licor en alambiques clandestinos, los cuales no garantizan una temperatura estable a lo largo del proceso de destilación, generando así un licor contaminado (mezcla de etanol y metanol), que en última instancia va al consumidor.

En casos letales el estudio tanatológico evidencia una degeneración parenquimatosa a nivel hígado, riñones y corazón. En los pulmones, se observa una descamación del epitelio, enfisema, edema, congestión y bronconeumonía. <sup>(3)</sup>

En la actualidad, el consumo de bebidas alcohólicas en nuestro medio se ha generalizado y con ello el problema de la adulteración, lo cual empeora el problema social del alcoholismo, puesto que el metanol causa deterioros irreversibles en la salud como ceguera nocturna y pancreatitis, entre los más comunes. <sup>(4)</sup>

La costumbre o habituación en el consumo de esta sustancia ha conllevado a los autores Alonso – Fernández hacer una clasificación de los bebedores

basada en la cantidad de alcohol consumida, es así que ellos mencionan tres tipos de bebedores. <sup>(5)</sup>

**a) Bebedor excesivo regular:** es aquel que consume alcohol diariamente en forma metódica, esto forma parte de su vida, una rutina cotidiana, y aunque lo hacen en forma excesiva no buscan ni llegan a la embriaguez, sólo le sirve para afianzarse en una realidad placentera, ello conduce a una dependencia biológica del alcohol (alcoholomanía secundaria). <sup>(5)</sup>

**b) Bebedor enfermo psíquico:** es aquel que utiliza el alcohol como instrumento para estimularse o combatir su realidad psicopatológica, tratando de modificar las vivencias y tensiones emocionales producidas por la enfermedad, pretende reducir el sufrimiento latente de sus vivencias psicopatológicas. <sup>(5)</sup>

**c) Bebedor alcoholómano,** es aquel que consume más alcohol del que puede eliminar hasta que su organismo lo acepte pudiendo llegar a dosis tóxicas que producen serias variaciones en su conducta. <sup>(5)</sup>

**(\*) En general se dice que “Alcohólico” es aquel que ha perdido la capacidad de abstenerse de beber y padece una enfermedad progresiva por dependencia del alcohol.** <sup>(5)</sup>

### **3.2. TOXICOCINÉTICA DEL METANOL <sup>(4)</sup>**

#### **3.2.1. Exposición**

Por lo general es por vía oral, pero también puede ingresar por vía dérmica o inhaladora.

#### **3.2.2. Absorción**

Se lleva a cabo a través de la piel, sistema digestivo, vías respiratorias, pero la digestiva es la forma más frecuente.

#### **3.2.3. Distribución**

Se distribuye de acuerdo al contenido de agua de los tejidos (VD 0,6 L/Kg). Hasta una semana después de su ingestión puede hallarse concentraciones superiores al del plasma en LCR, jugo gástrico y humor acuoso. No se une a las proteínas plasmáticas, razón por la cual se puede dializar. <sup>(4)</sup>

### 3.2.4. Metabolismo<sup>(4)</sup>

El metanol es metabolizado en el hígado, en la mitocondria del hepatocito, por la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) a formaldehído y subsecuentemente por la enzima aldehído-deshidrogenasa (ALDH) a ácido fórmico<sup>(6)</sup>. Se absorbe bien a nivel gastrointestinal y alcanza su máxima concentración entre los 30 y 90 minutos *post* ingesta, presenta un volumen de distribución de 0,6-0,7 L/kg.<sup>(7)</sup> La producción de formaldehído desempeña un papel importante en la degeneración del nervio óptico y la ceguera acompañante<sup>(8)</sup>. El metanol se metaboliza y se excreta a una velocidad que corresponde a 1/5 de la velocidad del etanol puesto que tiene una afinidad de 20 veces más de metabolizar al etanol primero respecto al metanol. Después de una dosis, la excreción en los pulmones y riñones continúan por al menos cuatro días. El pH de la orina llega hasta 5,0<sup>(9)</sup>. Dos mecanismos han sido considerados para explicar la baja oxidación del formato en especies susceptibles a la intoxicación por metanol: niveles hepáticos más bajos de tetrahydrofolato (THF) y capacidad reducida de la 10-Formiltetrahydrofolato deshidrogenasa.

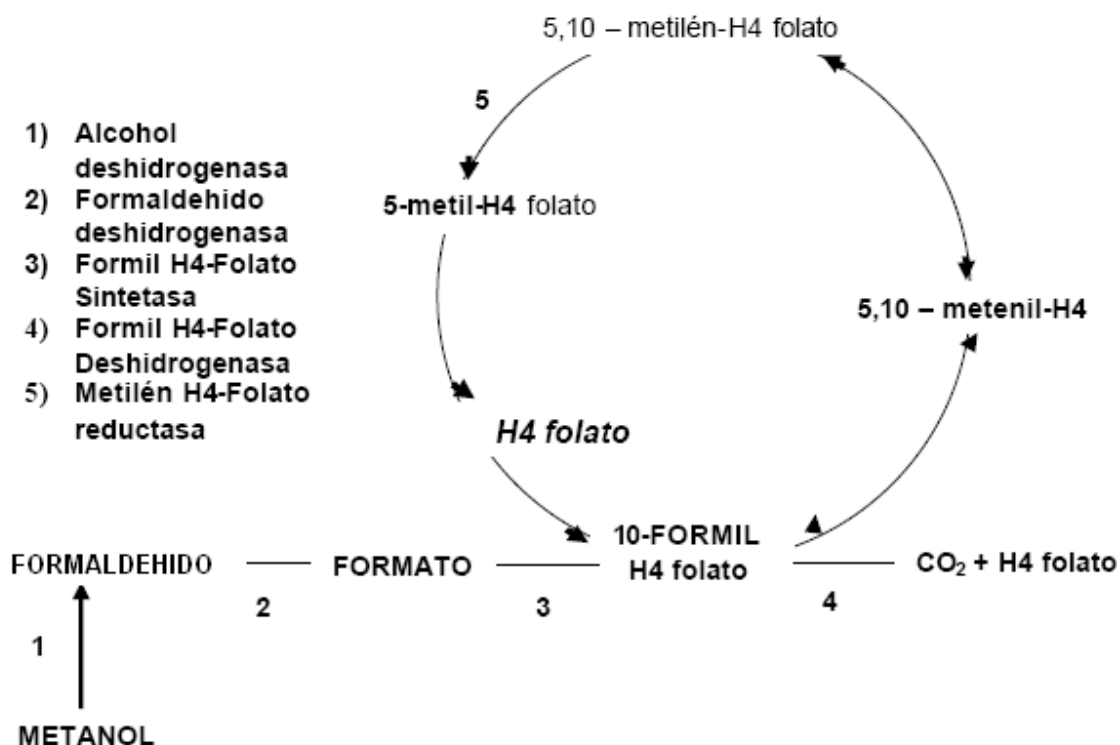


Figura 1. Metabolismo del metanol

En las especies de mamíferos el metanol es metabolizado a formaldehído en el hígado, y por pasos oxidativos subsecuentes, a través de una vía dependiente del tetrahidrofolato (THF) se forman ácido fórmico y dióxido de carbono (ver la figura. 1).

La enzima alcohol deshidrogenasa, es 22 veces más afín por el etanol que por el metanol, razón por la cual se utiliza el etanol como tratamiento (antídoto) de esta intoxicación, ya que al preferir la enzima como sustrato al etanol se evita la formación de los metabolitos tóxicos del metanol como son el formaldehído y el ácido fórmico. <sup>(4)</sup>

### **3.2.5. Eliminación**

El 80% se metaboliza en el hígado, el 10-20% restante se excreta sin cambios por los pulmones y un 3% por el riñón. <sup>(10)</sup>

## **3.3. TOXICODINAMIA DEL METANOL**

Se ha identificado al ácido fórmico como el metabolito responsable de los efectos tóxicos del metanol, el cual inhibe la citocromo oxidasa, interfiriendo así directamente con el transporte de electrones en la cadena respiratoria. Existe evidencia de que el ácido fórmico inhibe la función mitocondrial en la retina y aumenta el estrés oxidativo. Su acción citotóxica se ejerce de manera diferenciada sobre los otorreceptores, con una recuperación parcial de las respuestas dominadas por los bastones y ninguna recuperación sobre las respuestas mediadas por conos Ultravioleta (UV). No obstante, la susceptibilidad a la intoxicación por metanol es muy variable en los humanos, y aun más entre las diferentes especies de animales, dependiendo principalmente de la eficacia del ciclo de un carbono dependiente de tetrahidrofolato (THF). Los humanos y los primates no humanos son muy sensibles a los efectos tóxicos del metanol, mientras que los roedores, conejos y perros, entre otras especies, no lo son (Makar y col., 1990; Eells y col., 1996). Después de la ingestión del metanol, los pacientes intoxicados pueden presentar cefalea precoz (generalmente de tipo pulsante), gastritis, embriaguez, náuseas, vómito, poco diferenciables de la intoxicación etílica.

La acidosis no se presenta usualmente, porque el metabolismo no ocurre rápidamente; se puede encontrar elevación de la brecha aniónica (*anión gap*).

El periodo de latencia puede ser mayor cuando el etanol es ingerido concurrentemente con el metanol.

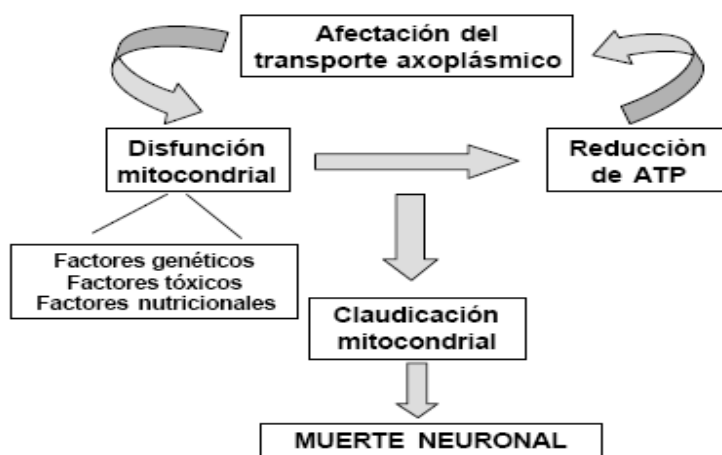
El metanol es metabolizado en el hígado por la mitocondria del hepatocito por la alcohol deshidrogenasa convirtiéndolo a metanal (formaldehído) y subsecuentemente por la aldehído-deshidrogenasa a ácido metanoico (ácido fórmico). Los efectos de esta intoxicación son producidos no solamente por el alcohol metílico, sino más bien por sus metabolitos como son el metanal y el ácido metanoico. <sup>(4)</sup> Por encima de 30 horas, se presenta acidosis metabólica severa, desordenes visuales, ceguera, convulsiones, coma, y puede ocurrir la muerte. Los pacientes describen alteraciones visuales, como visión borrosa, fosfenos, escotomas, colores alrededor de los objetos. En el examen de fondo de ojo se puede evidenciar hiperemia del disco óptico o papiledema. La midriasis precoz y no reactiva es un signo de mal pronóstico y significa pérdida irreparable de la función visual.

Teniendo en cuenta que la lesión mitocondrial crónica conlleva una insuficiencia de Adenosín Trifosfato (ATP) y que el transporte axoplásmico de las mitocondrias es un proceso altamente dependiente de energía (Siegel y col., 1999), llega a producirse un círculo vicioso ( ver la figura 2): disfunción mitocondrial – reducción de ATP – afectación del transporte axoplásmico de mitocondrias - más reducción de ATP, que finalmente provoca una claudicación mitocondrial, con la consiguiente muerte neuronal.

La acidosis sistémica es causada por el ácido fórmico y por el ácido láctico que se genera por el estado de deterioro generalizado del paciente; mientras que la ceguera es causada principalmente por el formato.

La insuficiencia mitocondrial puede lesionar a cualquier célula del organismo. Sin embargo, todas las mitocondrias de las neuronas se forman en el soma y deben ser transportadas a los núcleos de Ranvier y a la terminación sináptica por transporte axoplásmico. Al estar afectada la fosforilación oxidativa se bloquea el transporte axoplásmico. Así, se comprometen más las fibras más largas, las más finas, las de disparo más frecuente, y aquellas con poca mielina o sin mielina, que son metabólicamente más ineficientes. Esto finalmente lleva a la interrupción completa del sistema de transporte, dando lugar a la disfunción y muerte celular. Las fibras nerviosas que reúnen estas características corresponden a las del haz papilomacular del nervio óptico, así como los nervios periféricos largos y sensitivos, pudiendo contribuir así a la

aparición de la neuropatía óptica y periférica, observada en los pacientes con neuropatía epidémica.



**FIGURA 2. Círculo vicioso por déficit mitocondrial**

## **METANOL**

Tiene un efecto irritante en mucosas de vías respiratorias altas, esófago y estómago. En la piel actúa como irritante directo y al disolver el manto ácido graso puede facilitar la acción de otros tóxicos. A nivel del sistema nervioso central su acción es depresora. Su acción embriagante es menor que la del etanol. <sup>(4)</sup>

## **FORMALDEHÍDO**

Por ser un gas, es más difusible que el metanol. Es más soluble en agua y en ésteres que el metanol, disuelto con agua al 40% recibe el nombre de FORMOL que es un líquido incoloro, penetrante y sofocante, favorece su acumulación en compartimentos ricos en agua como el globo ocular y el líquido cefalorraquídeo. Puede alterar la función de las proteínas e incluso precipitarlas si se encuentra en concentración suficiente. <sup>(4)</sup>

## **ÁCIDO FÓRMICO**

Es un líquido, incoloro e irritante, muy soluble en agua, es el causante de la acidosis metabólica y ceguera irreversible, produce la desmielinización del nervio



óptico. Debido a su carácter ácido precipita las proteínas y altera los componentes estructurales de la célula. <sup>(11)</sup>

### 3.4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

El metanol al igual que el etanol, es un depresor de la actividad del sistema nervioso central y aunque por se es poco tóxico, las manifestaciones principales de su toxicidad son debidas a sus metabolitos, el formaldehído y el ácido fórmico. Las manifestaciones principales del envenenamiento con metanol son los trastornos visuales y la acidosis metabólica pudiendo distinguir entre toxicidad aguda y crónica.

#### 3.4.1. Toxicidad Aguda

Se produce por ingestión Inhalación o absorción cutánea. <sup>(9)</sup>

Los síntomas de intoxicación por metanol aparecen tras un periodo de latencia entre 12 a 18 horas y es mayor si la ingesta se hizo junto con etanol. Según la cantidad ingerida, el cuadro toxico puede ser:

**3.4.1.1. Ligero:** Fatiga, cefalea, náuseas y visión borrosa transitoria.

**3.4.1.2. Moderado:** Cefalea intensa, mareo náuseas, vómitos y posteriormente elevación de las enzimas pancreáticas y depresión del sistema nervioso central. La visión falla en forma transitoria o permanente después de dos a seis días.

**3.4.1.3. Grave:** Los síntomas antes mencionados evolucionan con respiración rápida y superficial por la acidosis, también aparece cianosis, coma, hipotensión, midriasis, fotofobia, escotomas, centellos y edema de papila, además aparece hiperemia del disco óptico con borrado de sus márgenes. Alrededor del 25 % de aquellos con intoxicación grave desarrollan acidosis metabólica (concentraciones de bicarbonato sanguíneo menor 20 mEq/L) y fallecen por insuficiencia respiratoria y edema cerebral.

### **3.4.2. Toxicidad Crónica**

Se produce por inhalación. Los trastornos visuales son el primer signo de intoxicación esto se inicia con visión borrosa leve del campo visual y en ocasiones a ceguera completa.<sup>(9)</sup>

## **3.5. DATOS DE LABORATORIO Y DIAGNÓSTICO**

La acidosis metabólica con aumento del anión gap. El diagnóstico se basa en la anamnesis, con el antecedente de la posible ingesta del metanol. La concentración endógena de metanol es de 0,05 mg/100 mL. Los pacientes asintomáticos tienen una concentración máxima inferior a 20 mg/100 mL; cifras superiores a 50 mg/100 mL se acompañan de alteraciones visuales y son indicación de iniciar hemodiálisis; el riesgo de muerte se incrementa con cifras superiores a 150 - 200 mg/100 mL.

## **3.6. IMPORTANCIA MÉDICO LEGAL DEL METANOL**

### **3.6.1. Importancia Médico Legal de la embriaguez**

La embriaguez es el conjunto de fenómenos psicosomáticos, que resultan de la acción del alcohol etílico y que pudiera estar adulterada con metanol sobre el cerebro deprimiendo las funciones vitales, y corresponde a la intoxicación alcohólica aguda, es la causa de degeneración orgánica y psíquica. Posee una extraordinaria importancia sociológica, criminológica y médico legal.<sup>(2,3)</sup>

La trascendencia social del alcoholismo, en sus diversas manifestaciones, está demostrada en las estadísticas que señalan repercusiones económicas, profesionales, familiares y de otra índole. Sin embargo, cabe mencionar que hay intereses de diversos sectores nacionales que impiden la adopción de medidas prohibitivas del consumo.

Por el contrario, no podemos dejar de ocuparnos de la importancia criminógena y criminalística de la embriaguez, motivo de frecuentes actuaciones médico legales, que dan lugar a variados problemas periciales que propician acciones litigantes.

El metanol mezclado en los licores está considerado como un factor criminógeno general de primer orden. Está comprobado que los llamados "días criminales" (fines de semana y feriados) es decir, aquellos en los que estadísticamente es más elevado el número de delitos, corresponden precisamente a los días de exceso en el consumo de bebidas alcohólicas. De modo paralelo, aquellas regiones de un país, aquellas ciudades, o aquellos distritos de una población, en el que el consumo de alcohol es mayor, poseen igualmente un mayor índice de criminalidad.

Pero además, el alcohol, engendra de modo específico determinados delitos, cuya frecuencia experimenta unos incrementos acusados en los días de consumo alcohólico. Entre estos delitos merecen mencionarse: las riñas y altercados, las alteraciones del orden público, las lesiones y aún los homicidios, los insultos, la rebelión y la desobediencia. Lugar destacado merece los delitos sexuales, en cuya génesis tiene el alcohol un papel desencadenante, demostrado tanto casuística como estadísticamente.<sup>(3)</sup> Todo ello conlleva finalmente al deterioro de la sociedad.

Pero sin duda, la mayor importancia desde el punto de vista numérico, así como por la gravedad de sus consecuencias, corresponde al papel del alcohol en los llamados delitos de circulación o sucesos de tránsito. El gran número de estos y la responsabilidad que incumbe en su producción al alcoholismo, tanto del conductor como de la víctima (en mayor porcentaje), ha obligado en todos los países a dictar medidas legislativas especiales, tendientes a su profilaxis y represión.<sup>(3)</sup>

En el Perú, la legislación vigente señala los límites para los diferentes grados de alcoholemia (alcohol etílico) de acuerdo a la Ley N° 27753<sup>(14)</sup>, sin embargo a pesar que el metanol también genera embriaguez y una intoxicación de mayor gravedad, no se considera en nuestra legislación.

### **3.6.2. Dosis Tóxica<sup>(4)</sup>**

La dosis letal del metanol está estimada en 30 mL a 240 mL (20-150 gramos). La dosis tóxica mínima es aproximadamente de 100 mg/kg.

Se pueden encontrar niveles elevados de metanol en sangre luego de exposición dérmica extensa o por inhalación. Una concentración sérica de 40 mg % (0,4g 0/00) es mortal.

### **3.6.3. Muerte por intoxicación del metanol**

La muerte por intoxicación de alcohol metílico es frecuente. En estudios realizados (Garrito y Cols – 1982) en los que se analizan las intoxicaciones agudas por 10 años en un estado norteamericano donde 91 casos fueron debidos al alcohol metílico, lo que representa el 0,3 % de todas las muertes y el 8 % de muertes por intoxicación. <sup>(3)</sup>

Se considera que la ingesta de 50 mL a 100 mL de metanol genera una intoxicación mortal.

Cuando se toma la muestra de sangre del cadáver, se ignora la dinámica del suceso precedente. Puede ocurrir que el individuo en vida tuviese una dosis letal (por encima de 100 mL), pero con una sobrevivencia en estado de coma de varias horas la alcoholemia podría bajar a cifras no letales, sin embargo hay consecuencias irreversibles como la ceguera o la pancreatitis. <sup>(9)</sup>

## **3.7. VARIACIÓN *POST MORTEM* DEL METANOL**

### **3.7.1. Efecto de la temperatura**

La producción del metanol puede producirse ya sea en el cuerpo intacto (entre el deceso y la necropsia) o en los fluidos corporales, especialmente en la sangre recolectada durante la necropsia. Si el cuerpo no es mantenido a temperaturas bajas, la producción endógena de metanol tiene lugar durante las primeras 24 horas. <sup>(12)</sup>La contaminación por síntesis microbiana, puede ser prevenida por la preservación correcta de las muestras, mediante la refrigeración del cuerpo dentro de las cuatro horas post deceso. <sup>(13)</sup>

### **3.7.2. Efecto del tiempo**

Generalmente, el tiempo no es problema, por lo menos durante las primeras 24 a 48 horas *post mortem*. Mientras que el intervalo de tiempo *post mortem* aumenta, también aumenta la probabilidad de la producción endógena de metanol por los microorganismos presentes, particularmente cuando las temperaturas ambientales son altas y el cuerpo está traumatizado. <sup>(15,16)</sup>

### 3.7.3. Efecto del preservante

Los preservantes más comúnmente usados son las sales de flúor, aunque bajo ciertas condiciones han sido reportadas como inadecuadas <sup>(17)</sup>, mantener las muestras con fluoruro de sodio al 1 % después de la necropsia, impide la producción de metanol por la mayoría de los microorganismos, menos por *Cándida albicans*. <sup>(17)</sup>

El ion fluoruro es sumamente eficaz en inhibir la actividad de varias enzimas, tales como la enzima enolasa, un componente en el camino glicolítico, es también importante por su efecto en levaduras, hongos y muchos otros microorganismos responsables de la fermentación y a su vez evitar la coagulación sanguínea. <sup>(18,19)</sup>

El manejo correcto de las muestras recolectadas, debe incluir la adición inmediata de la cantidad correcta de preservante, y definitivamente el almacenamiento de las muestras tan pronto como sea posible. <sup>(20)</sup>

Se recomienda utilizar fluoruro de sodio en concentraciones de 1% a 5% en peso o volumen, para los análisis *post mortem* de metanol. <sup>(21)</sup>

## 3.8. CROMATOGRAFÍA

### 3.8.1. La Cromatografía de Gases

Es un método físico de separación en el que los componentes se distribuyen entre dos fases, una estacionaria y otra móvil. Agrupa un conjunto de métodos que permiten separar componentes estrechamente unidos en mezclas complejas. <sup>(22)</sup>

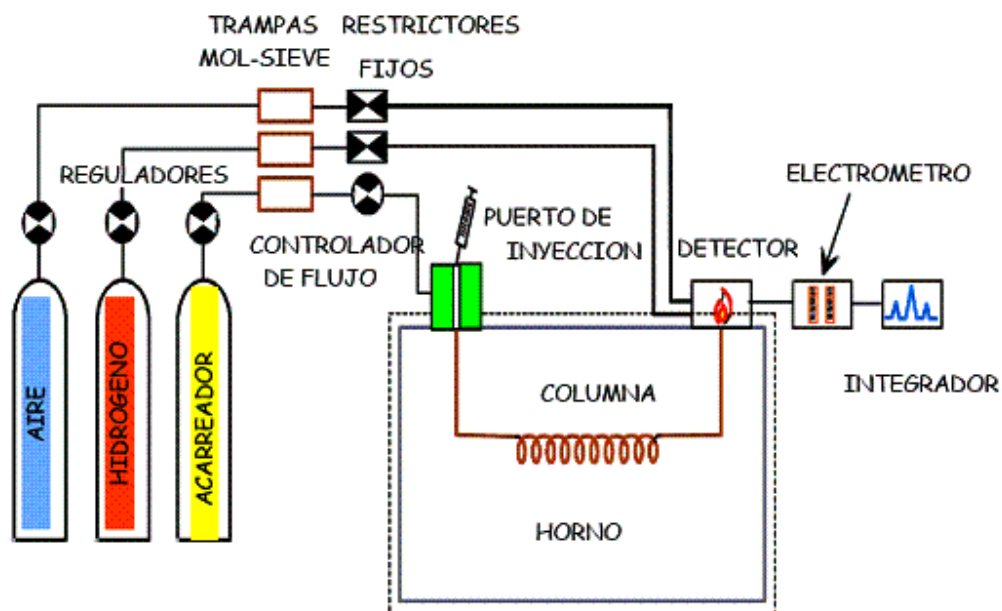
La muestra se disuelve en una **fase móvil** (un gas, un líquido u otro fluido supercrítico), que se hace pasar a través de una **fase estacionaria** que se mantiene fija en una columna o sobre una superficie sólida. <sup>(23)</sup> Los componentes de la muestra se distribuyen entre las fases dependiendo de su afinidad por cada una de ellas.

Es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se toma con una jeringa para luego inyectarla en la columna cromatográfica. La elusión se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de los otros

tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna hasta el detector.<sup>(21)</sup>

El Cromatógrafo de gases consta de las siguientes partes.<sup>(3,21,23,24)</sup>

- Un sistema para alimentar un gas de transporte que recorre en forma permanente el circuito del cromatógrafo
- Un sistema de Inyección. El Inyector es el lugar por donde se introduce una pequeña cantidad de muestra (del orden de  $1\text{ cm}^3$  de gas o 1 micro-litro de líquido) en medio de la corriente de gas.
- Un sistema de Separación, formado por una o varias columnas que llevan a cabo la tarea de fraccionamiento de los diferentes componentes.
- Un sistema de Detección para generar una señal cuando un componente de la mezcla completa el recorrido del sistema de separación.
- Un sistema de Integración para cuantificar la señal generada por cada componente en el Detector <sup>(3,21,23,24)</sup>.



**Figura 3. Partes del equipo cromatógrafo de gases <sup>(24)</sup>**

### **3.8.2. Gas portador**

El gas portador debe ser inerte y se elige de modo que no interfiera con las mediciones que se realizan. Los gases usados más frecuentemente son Hidrógeno, Helio, Argón, Nitrógeno o Dióxido de carbono. La elección de este gas en ocasiones depende del tipo de detector empleado. <sup>(3,21,23,24)</sup>

### **3.8.3. Inyector**

El inyector es sólo una pequeña cámara colocada inmediatamente antes de la(s) columna(s) de separación, donde se accede mediante una jeringa adecuada o con una válvula de inyección. El modo estándar, adecuado para aproximadamente 95 % de las aplicaciones de las columnas empacadas (o empaquetadas), es la inyección directa. La muestra es inyectada con una jeringa hipodérmica a través de un séptum de goma (o hule) de silicona autosellante, a un alineador de vidrio (glass insert) contenido en un bloque metálico, donde es vaporizada y barrida hacia la columna. El bloque se calienta a una temperatura que se fija en un valor suficientemente alto para convertir prácticamente en forma instantánea la muestra líquida en vapor. La cantidad de muestra inyectada es del orden de  $\mu\text{L}$  para líquidos y un valor superior para gases. <sup>(3,21,23,24)</sup>

### **3.8.4. Columnas**

El sistema de columnas cromatográficas constituye el centro de todo cromatógrafo. Cada columna se diseña para aprovechar alguna propiedad de los diferentes componentes que resulte adecuada para generar distinta velocidades de avance para cada uno de ellos durante el recorrido de la columna. <sup>(3,21,23,24)</sup>

En el caso de los hidrocarburos se suele usar la volatilidad como propiedad distintiva entre los diversos componentes. Para aprovechar esta propiedad se emplea una fase líquida estacionaria que queda retenida en la columna mientras el gas circula por ella. Si esta fase estacionaria es no polar (siliconas, hidrocarburos de elevado peso molecular) la tendencia a disolverse en ella crece al bajar la volatilidad de los compuestos analizados. De este modo las moléculas de los componentes pesados permanecen más tiempo (en término medio) en la fase líquida que en el gas que circula permanentemente.

Debido a esta característica, las moléculas de los componentes menos volátiles avanzan más lentamente que las de los componentes más volátiles, a la misma temperatura. <sup>(3, 21, 23,24)</sup>

En forma simplificada puede afirmarse que las columnas de este tipo actúan como sistemas de destilación de muy elevada eficiencia y los diferentes compuestos las recorren empleando tiempos que son proporcionales a sus respectivos puntos de ebullición.

El sistema de columnas cromatográficas está encerrado en un horno de temperatura variable para optimizar la velocidad a la que se producen los procesos de separación. <sup>(3,21,23,24)</sup>

### 3.8.5. Detectores

Los detectores empleados en cromatografía gaseosa son de varios tipos, pero los dos principales son los siguientes:

1. Detector de Conductividad Térmica (TCD).
2. Detector de Ionización de Llama (FID).

En cromatografía de gases, el **detector de ionización de llama (FID)** es uno de los detectores más extensamente utilizado y, por lo general, uno de los más aplicables. En un quemador, el efluente de la columna se mezcla con Hidrógeno y con aire para luego encenderse eléctricamente. <sup>(3,21,23,24)</sup>

La mayoría de los compuestos orgánicos, cuando se pirolizan a la temperatura de una llama de Hidrógeno/aire, producen iones y electrones que pueden conducir la electricidad a través de la llama. Entre el extremo del quemador y un electrodo colector situado por encima de la llama, se aplica una diferencia de potencial de un determinado voltaje, y para la medición de la corriente que resulta (de unos  $10^{-12}$ A) se utiliza un amplificador operacional de alta impedancia. <sup>(3,21,23,24)</sup>

El detector de ionización de llama debido a que es un detector que responde al número de átomos de carbono que entra en el detector por unidad de tiempo, es un detector sensible a la masa, más que un sistema sensible a la concentración. En consecuencia, este detector tiene la ventaja de que los



cambios en el caudal de la fase móvil tienen poco efecto sobre la respuesta del detector. <sup>(3, 21, 23,24)</sup>

Grupos funcionales, tales como carbonilo, alcohol, halógeno y amina, originan en la llama pocos iones o prácticamente ninguno. Además, el detector es insensible a los gases no combustibles como H<sub>2</sub>O (g), CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, y NO. Esas propiedades hacen del detector de ionización de llama uno de los detectores generales más utilizado para el análisis de la mayoría de compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que están contaminados con agua y con óxidos de nitrógeno y de azufre. <sup>(3, 21, 23,24)</sup>

El detector de ionización de llama posee una elevada sensibilidad (del orden de 10<sup>-13</sup> g/s), un gran intervalo lineal de respuesta (de 10<sup>7</sup>), y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar. Una desventaja del detector de ionización de llama es que se trata de un detector destructivo de la muestra. <sup>(16, 17)</sup>

La prueba o análisis de dosaje etílico consiste en la determinación de la cantidad o concentración de alcohol etílico que se encuentra en la sangre de personas vivas o en cadáveres, la cromatografía de gases con detector de ionización a la llama la recomendada a nivel internacional debido a su alta especificidad. <sup>(3, 21, 23,24)</sup>

Resulta ser la cromatografía de gases con detector de ionización a la llama GC-FID, un análisis de gran importancia, pues de ello depende que el resultado obtenido sirva para que las autoridades den un fallo adecuado en los litigios que puedan originarse por la consecuencia del consumo de bebidas alcohólicas, es así que los procesos judiciales serán más objetivos, lo cual contribuirá a una mejor administración de justicia en el Perú.

## **IV. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1. Población y/o muestra:**

Las muestras se tomaron a una población de cuarenticinco (45) cadáveres en cuatro tiempos:

- En el levantamiento de cadáver.
- En el ingreso a la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima.
- En la necropsia de ley.
- En el retiro de la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima a los que se realizó la necropsia de ley.

### **4.2. Método:**

Experimental, recolección de muestras, análisis de cada muestra por cromatografía de gases con detector de ionización a la llama (GC-FID) con la técnica de espacio de cabeza (Head Space), recolección de resultados y datos e Información correspondiente a cada occiso en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima, Fiscalía de la Nación, Ministerio Público.<sup>(25,26)</sup>

### **Criterios de inclusión:**

- Cadáveres a los que se les realizó necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima.
- Cadáveres con diagnóstico de muerte violenta o muerte súbita, y diagnóstico de muerte de “causa por determinar”.
- Cadáveres que comprendan entre los 17 a 86 años de edad.
- Cadáveres que tengan como máximo 4 horas de muerte.

### **Criterios de exclusión:**

- No se utilizaron muestras de cadáveres con diagnóstico de muerte natural o por enfermedad terminal.

- No se utilizaron muestras de sangre de los cadáveres a los que se les realizó necropsia de ley en morgues de otras Divisiones Médico Legales (provincias).
- No se utilizaron muestras de sangre las que no fueron recolectadas y procesadas según la técnica descrita.
- No se utilizaron muestras de sangre de los cadáveres que no tuvieron como mínimo las cuatro muestras de sangre en tiempos diferentes.

#### **4.3. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos**

La toma de muestra de sangre se realizó de la siguiente manera:

- En el levantamiento de cadáver.
- En el ingreso a la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima.
- En la necropsia de ley.
- En el retiro de la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima a los que se realizó la necropsia de ley.

##### **4.3.1. Recolección de muestras:**

En el momento del levantamiento del cadáver se toma muestra de sangre con una jeringa hipodérmica de 5 mL de la vena subclavia; otra al llegar a la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias forenses de Lima con la misma técnica a la misma vena.<sup>(25)</sup>

En el momento de la necropsia, después de la apertura la cavidad torácica al abrir el saco pericárdico, para luego extraer la sangre de la cavidad intracardiaca; otra al momento del retiro del cuerpo de la morgue central se toma la última muestra de sangre con una jeringa hipodérmica de 5 mL de la vena femoral; en todos los casos se utiliza una jeringa estéril de 5 mL, luego se acondiciona la muestra de sangre en un frasco de vidrio con tapa rosca y cierre hermético de 5 mL con 0,05 g de Fluoruro de Sodio (1 %), el cual se llena por completo. El frasco de vidrio está limpio y herméticamente cerrado, evitando así la existencia de cámara de aire. La sangre se almacena en la nevera a una temperatura de -4 °C a 4 °C, aunque la bibliografía recomienda que sea a -20

°C,<sup>(3)</sup> pero esta temperatura es poco práctica por la solidificación de la muestra y el incremento de volumen que conllevan a la ruptura del envase.<sup>(1)</sup>

El frasco de vidrio con la muestra de sangre se rotula con el número de protocolo de necropsia y un número de control correlativo, los resultados se registran en la tabla respectiva.<sup>(1)</sup>

#### 4.3.2. Procesamiento de la muestra

Se utilizó el método de Cromatografía de Gases con detector de ionización a la llama con la técnica de espacio de cabeza(Head Space), el cual consiste en calentar la muestra preparada a una temperatura de 80 °C para volatilizar el alcohol metílico en parte superior de un vial, luego la jeringa del inyector del cromatógrafo toma la muestra volatilizada por punción y la inyecta de modo automático en el alineador (puerto de inyección ) para que con ayuda del transportador o “Carrier” (gas inerte de helio) pueda ser llevado a la columna cromatográfica, posteriormente se separa por peso molecular y se identifica en el detector y amplifica en el monitor de la computadora del equipo.<sup>(24)</sup>

#### 4.3.3. Técnica operatoria

La elaboración de la curva patrón de alcohol metílico G.C. se puede realizar a criterio del operador con las siguientes concentraciones:<sup>(21)</sup>

C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>	C <sub>4</sub>	C <sub>5</sub>	C <sub>6</sub>	C <sub>7</sub>	C <sub>8</sub>
0,02g/L	0,04g/L	0,08g/L	0,16g/L	0,32g/L	0,48g/L	0,64g/L	0,80g/L

Las soluciones acuosas utilizadas se prepararon con agua procesada en el equipo Ultra pure Water System – Barnstad.

La preparación de la muestra para el análisis de dosaje metílico se realiza en viales de 20 mL con tapa septa y capuchón de aluminio, en la cual se prepara la muestra de la siguiente manera:

- Se agrega 200 µL de muestra de sangre.
- Se agrega 200 µL de solución de saponina al 1 %.
- Se agrega 200 µL de n-propanol (estandar interno)

- Se agrega 200 µg de Cloruro de Sodio Anhidro ultra puro.

Luego cada uno de los viales se sella hermeticamente y se lleva al cromatógrafo de gases con detector de ionización a la llama (GC-FID) para su análisis respectivo.

#### **4.4. Procesamiento y análisis de datos.**

La recolección de los datos se realizó mediante un formato desarrollado para este fin.

#### **4.5. Materiales**

##### **4.5.1. Equipos:**

- Cromatógrafo de gases con detector de ionización a la llama: GC- FID, marca *Thermo Finnigan*. Modelo 128733200000010
- Head Space, marca *Thermo Finnigan*.
- Campana de flujo laminar. Marca ESCO. Modelo II *Biohazard Safety Cabinet*
- Termómetro digital con detector de humedad. Marca CTH modelo 709.
- Congeladora de 12 pies cúbicos. Marca *Coldex*. Modelo *Cool Door System*.
- Equipo destilador *Ultra pure Water System – Barnstad*.

##### **4.5.2. Reactivos: <sup>(24)</sup>**

- Alcohol metílico de grado cromatográfico. Marca *Merk*.
- Alcohol n-propanol de grado cromatográfico. Marca *Merk*.
- Saponinas químicamente puro. Marca *Merk*.
- Cloruro de Sodio anhidro químicamente puro. Marca *Merk*.
- Agua destilada desionizada.

- Gas Hidrógeno.
- Gas Helio.
- Gas Aire.
- Lejía.
- Solución de yodopolividona.

#### **4.5.3. Materiales:**

- Viales de 20 mL con tapa septa y capuchón.
- Tips x 100  $\mu$ L.
- Tips x 250  $\mu$ L.
- Tips x 500  $\mu$ L.
- Tips x 1000  $\mu$ L.
- Tips x 5000  $\mu$ L.
- Micropipetas 100  $\mu$ L.
- Micropipetas 250  $\mu$ L.
- Micropipetas 500  $\mu$ L.
- Micropipetas 1000  $\mu$ L.
- Micropipetas 5000  $\mu$ L.
- Fiolas de vidrio tipo "A" con tapa esmerilada 50 mL.
- Fiolas de vidrio tipo "A" con tapa esmerilada 100 mL.
- Gradillas 2,5 cm x 2,5 cm x 24 tubos.
- Bandejas de acero quirúrgico 40cm x 60cm x 2cm
- Piceta de 500 mL.

- Pipeteador automático de 1000 mL.
- Guantes quirúrgicos # 08
- Espátulas spoom x 1 mg
- Espátulas spoom x 3 mg
- Espátulas spoom x 5 mg
- Selladores manuales
- Papel toalla
- Esponja

#### **4.5.4. Condiciones de trabajo:**

El inyector se programó a la temperatura de 85 °C, el horno a 80 °C con una corrida de 3,5 minutos.

Se usó gas Helio como *carrier* a un flujo de 28 mL/min.

Se usó gas Hidrógeno como comburente a un flujo de 35 mL/min.

Se usó gas Aire a un flujo de 350 mL/min.

#### **4.5.5. Parámetros analíticos:**

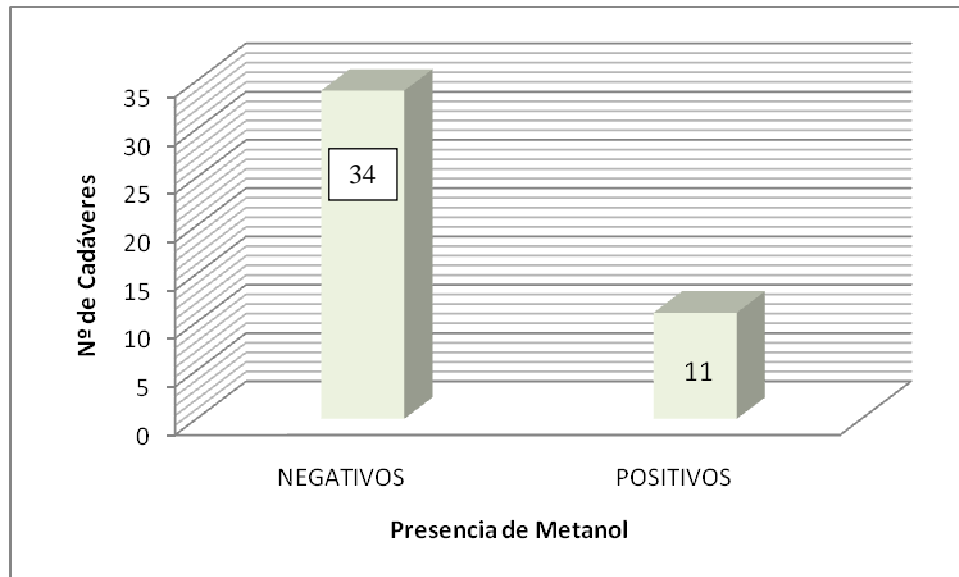
El tiempo de corrida (*time run*) por muestra fue de de tres minutos y medio con un tiempo de retención para el metanol de 0,47 minutos y para el estándar interno de 1,4 minutos.

#### **4.5.6. Análisis de la muestra:**

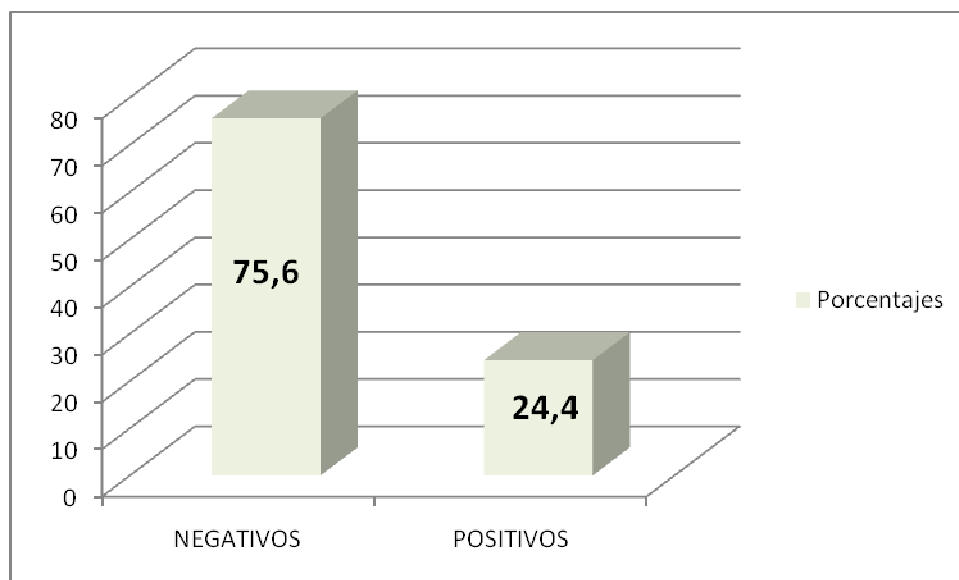
El equipo Cromatógrafo de gases con ionización a la llama (GC-FID) utilizado para la lectura de muestras, fue calibrado previamente con tres estándares de metanol de concentraciones 0,02g %, 0,08g % y 0,16g % respectivamente. Las muestras fueron tomadas y almacenadas hasta completar las cuatro necesarias para el análisis, mientras tanto se almacenaban a una temperatura entre -4°C y 4°C, luego fueron procesadas según la técnica de cromatografía de gases con ionización a la llama (GC-FID).

## V. RESULTADOS

En el presente trabajo de los 45 análisis realizados (04 por cada cadáver 180 en total), 11 salieron positivos y 34 negativos. Ver cuadro del anexo N° 4.



**Figura 4.** Presencia de metanol en sangre por número de cadáveres en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima

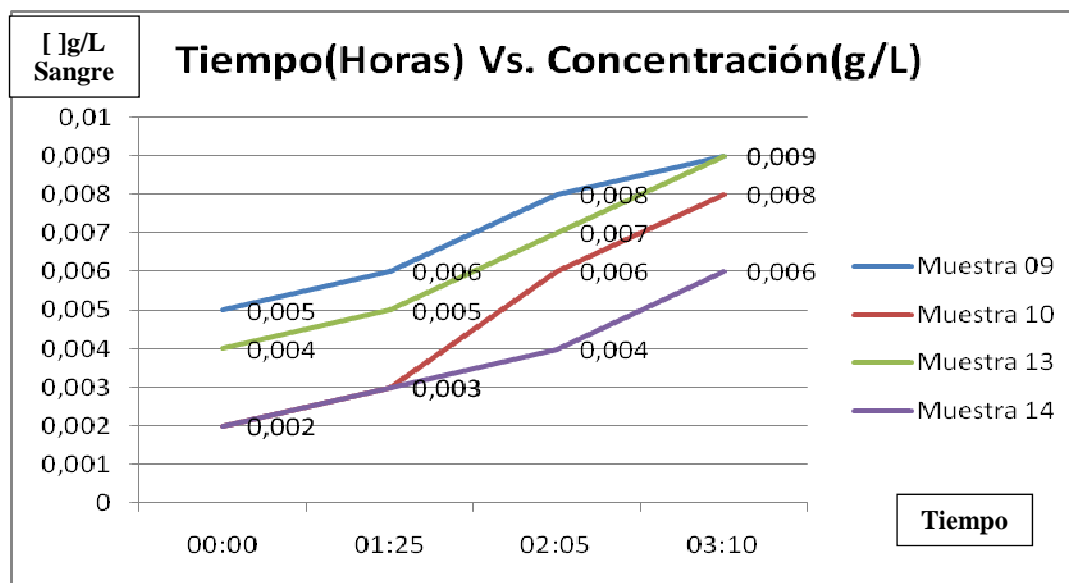


**Figura 5.** Presencia de metanol en sangre expresado en porcentaje nos da 24,4 % positivos y 75,6 % negativos de un total de 100 %

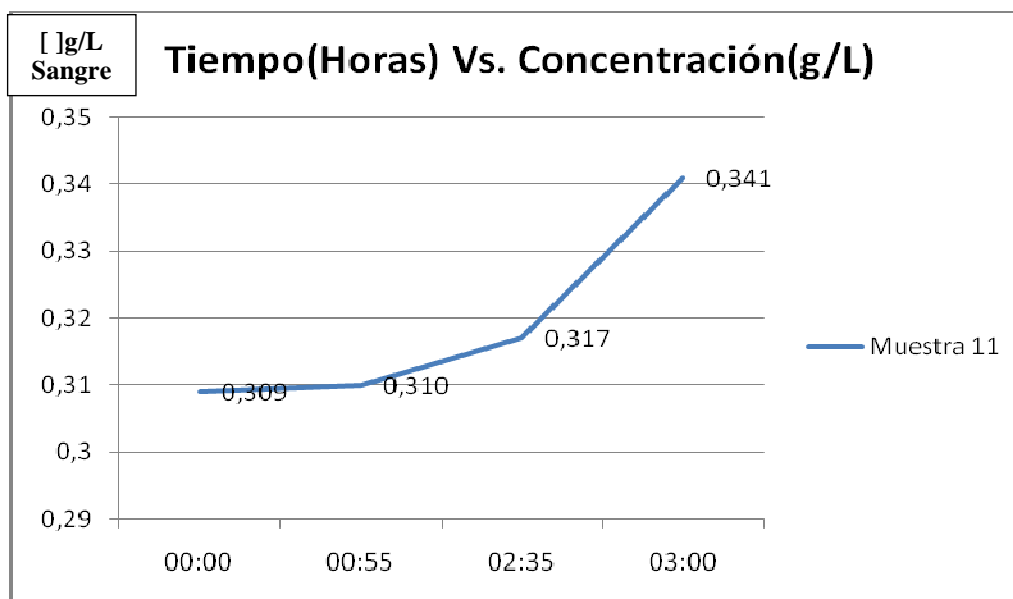


Los resultados obtenidos se clasificaron en cuatro grupos:

a) Las muestras N° 09, 10, 11, 13 y 14 presentaron un aumento en las concentraciones de metanol en sangre (Ver cuadro del anexo N° 5).



**Figura 6.** Variación de la concentración de metanol en función al tiempo en cadáveres necropsiados en Morgue Central de Lima.



**Figura 7.** Tiempo Vs. Concentración. Muestra 11

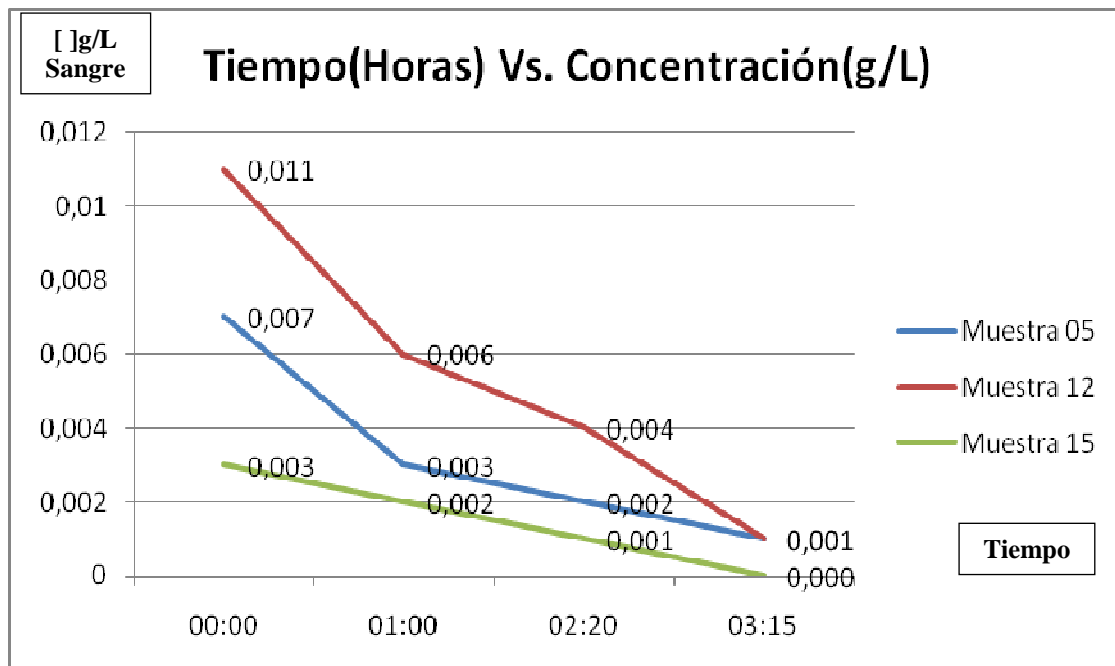
De las gráficas anteriores podemos obtener:

<b>Promedio</b>	<b>0,06820</b>
<b>Máximo</b>	<b>0,34100</b>
<b>Mínimo</b>	<b>0,00200</b>
<b>Desviación St.</b>	<b>0,12894</b>
<b>Moda</b>	<b>0,00600</b>

Se puede observar que de los valores obtenidos hay una marcada variación debido a que los resultados obtenidos en las muestras del occiso N° 11 son demasiado elevadas, lo cual da valores irreales en relación a la desviación estándar, al promedio y al máximo. Al hacer el cálculo sin estos valores se obtuvo los siguientes estadígrafos:

<b>Promedio</b>	<b>0,00544</b>
<b>Máximo</b>	<b>0,00900</b>
<b>Mínimo</b>	<b>0,00200</b>
<b>Desviación St.</b>	<b>0,00234</b>
<b>Moda</b>	<b>0,00600</b>

b) Las muestras N° 05, 12, y 15 presentaron una disminución en las concentraciones de metanol en sangre (Ver cuadro del anexo N° 6).

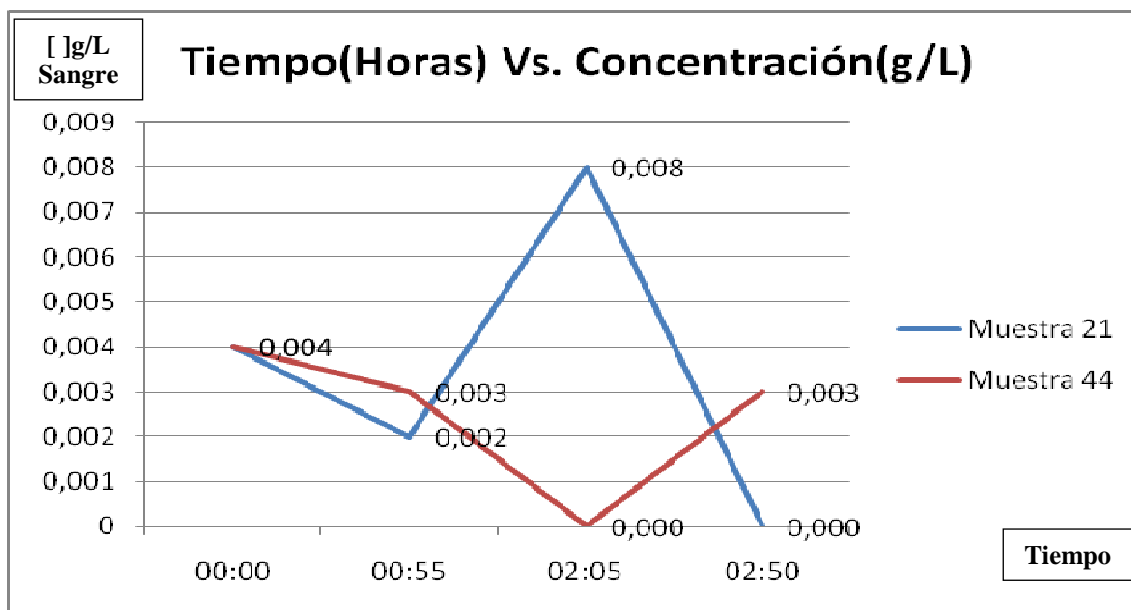


**Figura 8.** Tiempo Vs Concentración. Muestras 05, 12 y 15.

De la gráfica anterior podemos obtener los siguientes estadígrafos:

<b>Promedio</b>	<b>0,00342</b>
<b>Máximo</b>	<b>0,01100</b>
<b>Mínimo</b>	<b>0,00000</b>
<b>Desviación St.</b>	<b>0,00318</b>
<b>Moda</b>	<b>0,00100</b>

c) La muestra N° 21 y 44 presentaron una variación irregular disminuyeron y aumentaron en la concentración de metanol en sangre (Ver cuadro del anexo N° 7).



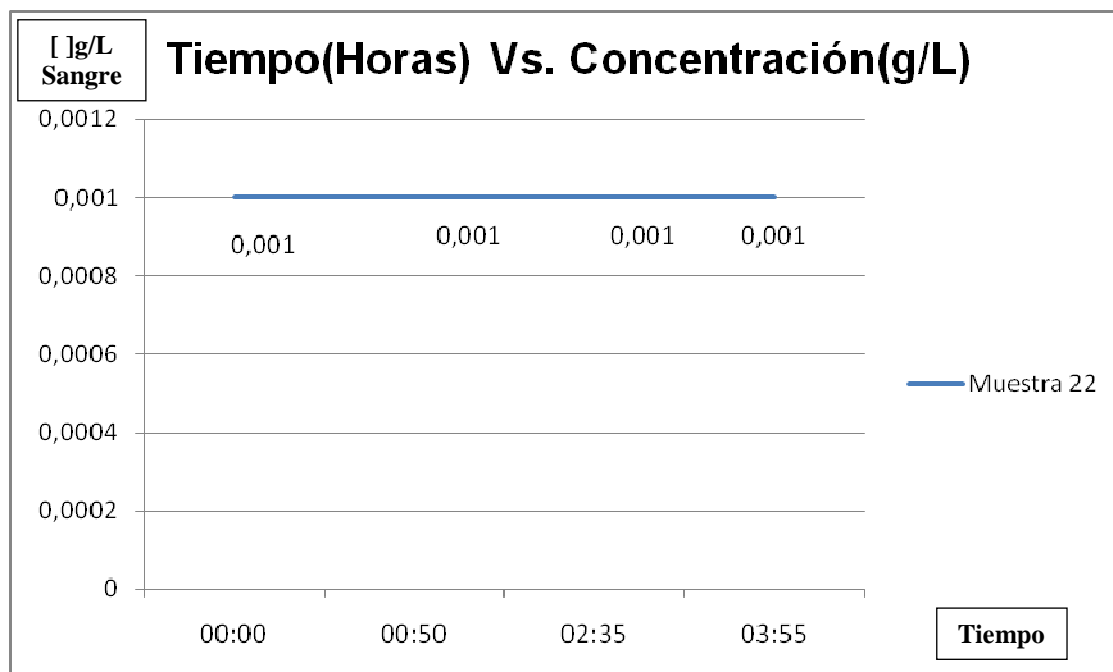
**Figura 9.** Tiempo Vs. Concentración. Muestras 21 y 44.

De la gráfica anterior podemos obtener los siguientes estadígrafos

:

<b>Promedio</b>	<b>0,00300</b>
<b>Máximo</b>	<b>0,00800</b>
<b>Mínimo</b>	<b>0,00000</b>
<b>Desviación St.</b>	<b>0,00256</b>
<b>Moda</b>	<b>0,00400</b>

**d)** La muestra N° 22 no presentó variación en la concentración de metanol en sangre (Ver cuadro del anexo N° 8).



**Figura 10.** Tiempo Vs. Concentración. Muestra 22.

En esta muestra no se obtuvo variación en la concentración de alcohol metílico en sangre por lo que no se pueden calcular los estadígrafos como en los casos anteriores.

Se puede resumir los resultados obtenidos en el siguiente cuadro:

Total	Positivos		Negativos		Aumentan		Disminuyen		Variación irregular		No Varían	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
45	11	24,4	34	75,6	5	11,11	3	6,6	2	4,4	1	2,2

## VI. DISCUSIÓN

El resultado de la concentración del metanol en sangre es en la actualidad un problema de gran complejidad debido a que al ser el alcohol metílico un líquido volátil, éste puede perderse si no hay una adecuada técnica para tomar la muestra, así mismo se debe tener presente la cinética que presenta este alcohol.

Uno de los inconvenientes es cuando la muestra se toma en el lugar de los hechos ya que se hizo del cuello (vena yugular) o del brazo (vena basilíca, radial o cubital), ya que no siempre estas muestras dan un resultado correcto. En el presente trabajo, los resultados obtenidos se dividieron en cuatro grupos:

-En el primer grupo que incluye a la muestras N° 09, 10, 13 y 14 y sin considerar al N° 11 en las cuales la concentración de metanol en sangre aumenta en relación al tiempo, se observó en los resultados obtenidos que el mínimo fue de 0,002 g/L y el máximo de 0,009 g/L, con un promedio de 0,00544 g/L, una desviación estándar de 0,00234 mientras que el valor que más se repite es 0,006 g/L (Ver anexo N° 5).

-En el segundo grupo que incluye a la muestras N° 05, 12 y 15 la concentración de metanol en sangre disminuye en relación al tiempo, se observó en los resultados obtenidos que el mínimo fue de 0,000 g/L y el máximo de 0,011 g/L, con un promedio de 0,00342 g/L, una desviación estándar de 0,00318 mientras que el valor que más se repite es 0,001 g/L (Ver anexo N° 6).

-En el tercer grupo que incluye a la muestras N° 21 y 44 la concentración de metanol en sangre aumenta y/o disminuye en relación al tiempo sin mantener una relación constante, se observó en los resultados obtenidos que el mínimo fue de 0,000 g/L y el máximo de 0,008 g/L, con un promedio de 0,003 g/L, una desviación estándar de 0,00256 mientras que el valor que más se repite es 0,004g/L (Ver anexo N° 7).

-En el cuarto grupo que incluye a la muestra N° 22, se observó que la concentración de metanol en sangre no varía en relación al tiempo por lo que no se le puede aplicar los estadígrafos (Ver anexo N° 8).

A todas las muestras se le agregó fluoruro de sodio al 1 % y se les mantuvo refrigeradas a una temperatura entre -4 °C y 4 °C hasta que estén las cuatro muestras completas para realizar el análisis por la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización a la llama con espacio de cabeza.<sup>(29)</sup>

Estos resultados se pueden explicar teniendo en cuenta la cinética del metanol, pues es importante remarcar que se debe tener presente en qué fase de la distribución se encuentra, lo que se llama curva del metanol o área bajo la curva (BAC), ya que puede darse el caso que se encuentre en la etapa ascendente, la etapa constante (meseta) o la fase descendente.<sup>(27,28)</sup> Según sea el caso, se debe hacer la consideración que el caso amerita.

De acuerdo a los resultados obtenidos este aumento de metanol podría ser también por ingesta de bebidas light que contienen aspartame como parte de su composición y que al ser metabolizadas se convierte en metanol.

Así mismo, cabe mencionar que a mayor tiempo transcurrido hay una mayor posibilidad de variación en la concentración del metanol en sangre, lo cual se debe a factores intrínsecos como flora bacteriana, estados fisiológicos; o factores extrínsecos (contaminación por una manipulación inadecuada, mala técnica de toma de muestra, almacenamiento a temperaturas altas, presencia de cámaras de aire en el vial de toma de muestra entre otros).<sup>(3,5,30,31)</sup>

La temperatura de almacenamiento debe ser la menor posible, ello va a evitar la proliferación bacteriana<sup>(18)</sup>, así mismo se debe agregar Fluoruro de Sodio en concentraciones que varíen de 1 % a 5 % , el cual actúa como preservante y anticoagulante en casos extremos.<sup>(3,5)</sup>

En relación a la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización a la llama con espacio de cabeza, se puede decir que es la adecuada por su alta especificidad.<sup>(3,5,21,23,24,26)</sup>

Finalmente, de los resultados obtenidos en el presente trabajo y teniendo en consideración la bibliografía revisada se puede indicar que la muestra de sangre a analizar debe ser tomada de la cavidad cardíaca por ser la más

representativa en relación a la concentración de alcohol metílico en sangre<sup>(32,33)</sup>, así mismo debe tomarse la mencionada muestra de sangre con una técnica adecuada<sup>(25)</sup>, posteriormente se debe almacenar a una temperatura baja que puede ser entre -4 °C y 4 °C (no a una temperatura entre -20 °C y 20 °C<sup>(34)</sup> como indica la literatura, pues es poco práctica y se corre el riesgo de perder la muestra por ruptura del vial), se debe agregar un preservante para evitar el incremento o disminución de la concentración de alcohol metílico por acción bacteriana, el análisis de la muestra debe ser en el menor tiempo posible luego de haber sido tomada la muestra, con la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización a la llama con espacio de cabeza.



## VII. CONCLUSIONES

1. Se determinó que existe variación en la concentración de alcohol metílico en las muestras de sangre recolectadas en los cadáveres motivo del presente trabajo utilizando la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización a la llama con espacio cabeza.
2. Los resultados obtenidos de las muestras fueron comparados pudiéndose observar que hubo variaciones en los resultados, los cuales fueron de cuatro tipos:
  - Aumento:** Los resultados obtenidos así el mínimo fue de 0,002 g/L y el máximo de 0,009 g/L, con un promedio de 0,00544 g/L, una desviación estándar de 0,00234 mientras que el valor que más se repite es 0,006 g/L.
  - Disminución:** se observó en los resultados obtenidos que el mínimo fue de 0,000 g/L y el máximo de 0,011 g/L, con un promedio de 0,00342 g/L, una desviación estándar de 0,00318 mientras que el valor que más se repite es 0,001 g/L.
  - Variación irregular:** se observó en los resultados obtenidos que el mínimo fue de 0,000 g/L y el máximo de 0,008 g/L, con un promedio de 0,003 g/L, una desviación estándar de 0,00256 mientras que el valor que más se repite es 0,004 g/L.
  - **Sin variación:** se observó que el valor se mantiene constante a través de los cuatro análisis realizados.
3. Los resultados obtenidos en las muestras de sangre fueron comparados, se observó que hubo variación del metanol en la sangre en función al tiempo, el cual fue con un mínimo de 2:40' horas y un máximo de 4:00' horas, en que se toma la muestra en los occisos a los que se ha realizado la necropsia de ley en la División de Tanatología Forense del Instituto de Medicina Legal y Ciencias Forenses de Lima.

## VIII. RECOMENDACIONES

Del presente trabajo y teniendo en cuenta la naturaleza de la investigación podemos poner a consideración las siguientes recomendaciones:

1. Las muestras de sangre de cadáveres recepcionadas para el dosaje de metanol deben ser analizadas lo más pronto posible para un óptimo y fidedigno resultado.
2. La refrigeración de las muestras para el dosaje de metanol deben ser refrigeradas entre  $-4^{\circ}\text{C}$  a  $4^{\circ}\text{C}$  y no a  $-20^{\circ}\text{C}$  como refieren ciertas bibliografías por peligro a romperse el vial de vidrio que lo contiene.
3. No debe existir cámaras de aire (oxígeno) en el recipiente de frasco de vidrio entre la muestra y la tapa de este por peligro de expansión del metanol y por posible oxidación del mismo.
4. No debe tomarse muestras pútridas o en estado de descomposición orgánica para el dosaje de metanol por formación de microorganismos que pueden alterar el resultado.
5. El dosaje de metanol debe hacerse por el método de Cromatógrafo de Gases con Ionización a la Flama GC-FID por considerarse el método validado y aceptado internacionalmente en todas las instituciones de índole forense.
6. Se debería incluir el dosaje de metanol en otras muestras orgánicas así como el humor vítreo.
7. No se debe considerar para hacer cálculos retrospectivos utilizando fórmulas matemáticas con la finalidad de aproximar las posibles concentraciones del metanol en el momento del deceso debido a que no existe una correlación significativa

## IX. RERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Fiscalía General de la Nación. División de Normalización y Certificación Forense. Reglamento Técnico para la Determinación Clínica del Estado de Embriaguez Aguda. 2005. Bogotá (Colombia). Fiscalía General de la Nación; 2005.
2. Repetto M. Biotransformación de los tóxicos. 4 edición. En: Repetto M., Toxicología Fundamental. Madrid: Díaz de Santos; 2009.
3. Gisbert JA. Disolventes. En: Gisbert JA et al., Medicina Legal y Toxicología. Barcelona: Masson S.A.; 1998.
4. Laurence I. Goodman & Gilman: Las Bases de la Farmacología de la Terapéutica, 11 edición, México, Editorial McGraw – Hill Interamericana de México, 2007.
5. Repetto M. Toxicología Avanzada. Madrid: Díaz de Santos; 1995.
6. Gutiérrez Md, Intoxicación por metanol. Acceso: 18 /Nov/2010. Está disponible en: <http://www.bio-nica.info/Biblioteca/Gutierrez-Intoxicacion-Metanol.pdf>
7. Knigh B. “Medicina Forense De Simpson” editorial el manual moderno. 2 ed. México. DF\_ Santafé de Bogotá. 1999.
8. Bataller R. Toxicología clínica editorial universitat de Valencia 3 edición. Buenos Aires.1993.
9. Dreisbach. R Manual de toxicología clínica Dreisbach: Prevención, Diagnóstico y tratamiento., editorial el manual moderno. 7 ed. México 2003.
10. Di Biasi B. “Metanol”. acceso 06/12/2010. esta disponible en: <http://www.scribd.com/doc/7134382/5-Metanol>.
11. Intoxicación. Acceso 03/setiembre/2011. Está disponible en: [http://www.esecarisma.gov.co/www/index.php?option=com\\_content&task=view&id=61&Itemid=72](http://www.esecarisma.gov.co/www/index.php?option=com_content&task=view&id=61&Itemid=72)
12. Hansen A.C. Validity of post mortem alcohol determination. Ugeskr Laeger 156(1)(1994) 55-57.
13. Winek T., Winek CL and Wahba WW. The effect of storage at various temperatures on blood alcohol concentration. Forensic Sci Int 1996 Apr; 78(3): 179-185.
14. Carlos Ferrero: Ley de Alcoholemia. Diario oficial El Peruano 2002 mayo 23(Col. 1)

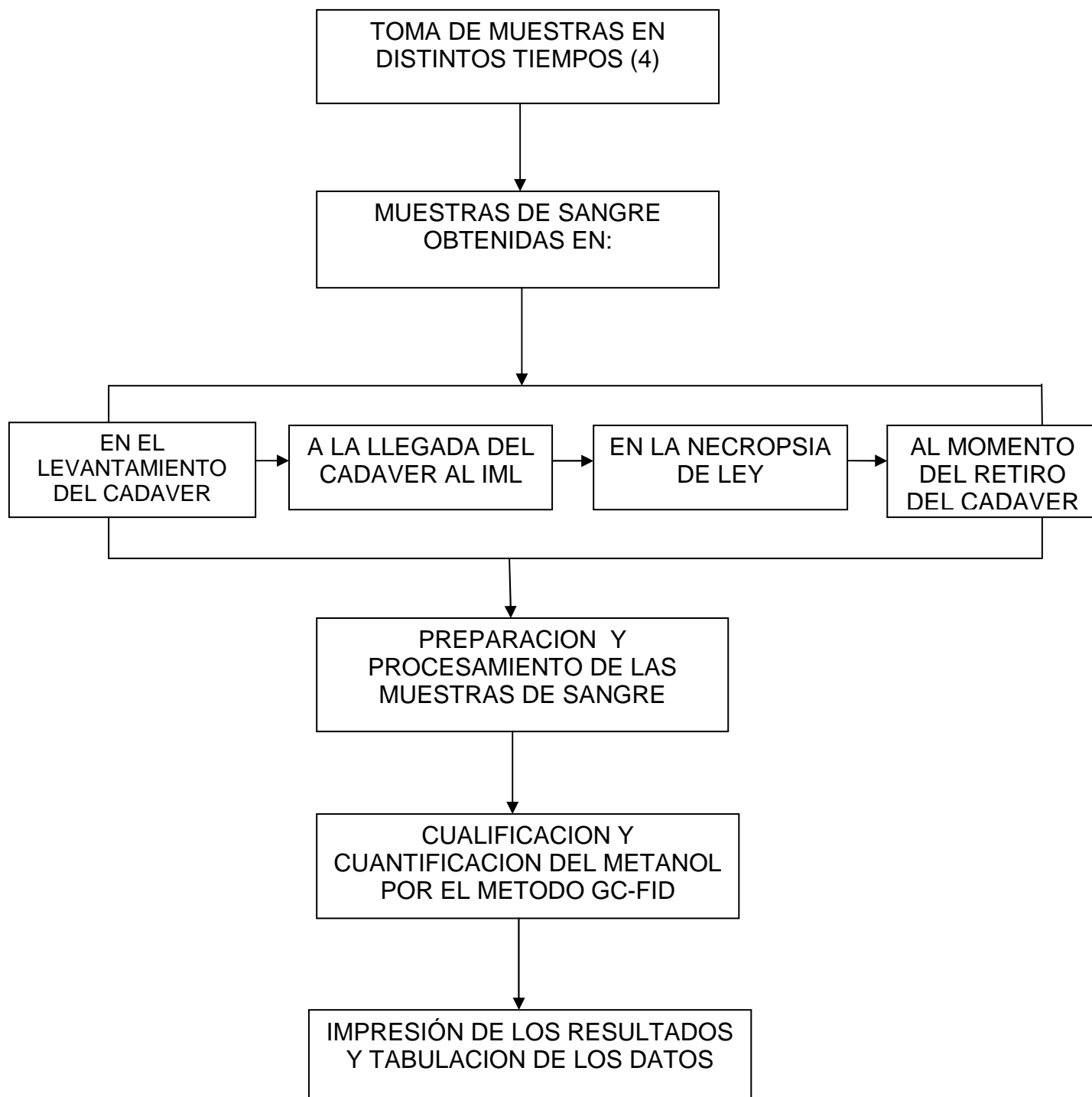
15. Clark MA, Jones JW. Studies of putrefactive ethanol production 1: lack of spontaneous ethanol production in intact human bodies. *J Forens Sci* 1982; 27: 36 -37.
16. Gormsen H. Alcohol production in the dead body. *J Forens Med* 1954: 1(5): 314 -315.
17. Helander A., O. Beck, and A. W. Jones. 1995. Distinguishing ingested ethanol from microbial formations by analysis of urinary 5-hydroxytryptophol and 5-hydroxyindoleacetic acid. *J. Forensic Sci.* 40: 95-98.
18. Helander A., H. Dahl, Urinary tract infection: a risk factor for falsenegative urinary ethyl glucoronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption, *Clin. Chem.* 51 (2005) 1728-1730.
19. Helander A., H. Dahl, Urinary tract infection: a risk factor for falsenegative urinary ethyl glucoronide but not ethyl sulfate in the detection of recent alcohol consumption, *Clin. Chem.* 51 (2007) 172-173.
20. Skopp, G. 2004. Preanalytic aspects in postmortem toxicology. *Forensic Sci. Int.* 142: 75-100.
21. Zuba D, Parczewski A and Rozanska M. Effect of salt Addition on sencitivity of HS-SPME-GC Method of volatile Determination. Sencitivity of chemistry, Jagiellonian Universty, Krakow, Poland.
22. Lévano J. En: Aspectos bioquímicos y legales de la alcoholemia. Lima (Perú); 2003.
23. Bruno Kolb y Leslie Ettre. Static Headspace-Gas Chromatography. Second Edition. Editorial Wiley-Intersciencie. New Jersey. 2006.
24. Skoog-Holler-Nieman. Principios de Análisis Instrumental. 5 edición. Editorial Mac Graw-Hill. Madrid. 2001.
25. Fiscalía General de la Nación. Comité Permanente de Cadena de Custodia. Manual de Procedimientos de Cadena de Custodia. 2003. Bogotá (Colombia). Fiscalía General de la Nación; 2003.
26. Kolb B, Ettre LS. Static Head space-gas Chromatography. New Haven: Wiley; 1997.

27. Klaasen CD, Watkins III JB Agentes tóxicos. 7 edición. En: Klaasen CD, Watkins III JB, Manual de Toxicología. México: Editorial Mc Graw -Hill Interamericana - versión en español. 2008.
28. Klaassen C, Amdur M, Dull J. Casarett and Doull's. Toxicology the Basic Science of Poisons". 7 ed. International Edition. Mac-Graw. 2008.
29. Lough PS and Fehn R. Efficacy of 1% Sodium Fluoride As a preservative in urine samples containing glucose and Candida albicans. J Forensic Sci 1993; 38(2): 266-271.
30. Masters SB, Lee NM. "Alcoholes". En Editores: Farmacología básica y clínica. Katzung B. 7 ed. El Manual Moderno. México. 1999; 437-451.13. Hodge CW, Cox AA. "The discriminative stimulus.
31. Hernández E, Bravo B, Mencías E. "Alcoholes, cetonas y glicoles". En: Mencías Rodríguez. Mayero Franco. "Manual de Toxicología Básica". Madrid, Ediciones Díaz de Santos. 2000.
32. Villavicencio N. M. Bioquímica, Fondo Nacional Editorial de la Universidad Mayor de San Marcos, 2 ed., Lima.1998.
33. Alvarado G. A. T. Determinación de alcohol Post Mortem: Aspectos a considerar para una mejor interpretación. Medicina Legal Costa Rica v. 25 n.2 Heredia septiembre. 2008.
34. Villanueva E. Estudio Toxicológico y Médico Legal del alcohol etílico. En: Gisbert JA et al., Medicina Legal y Toxicología. Barcelona: Masson S.A.; 1998.

## **X. ANEXOS**

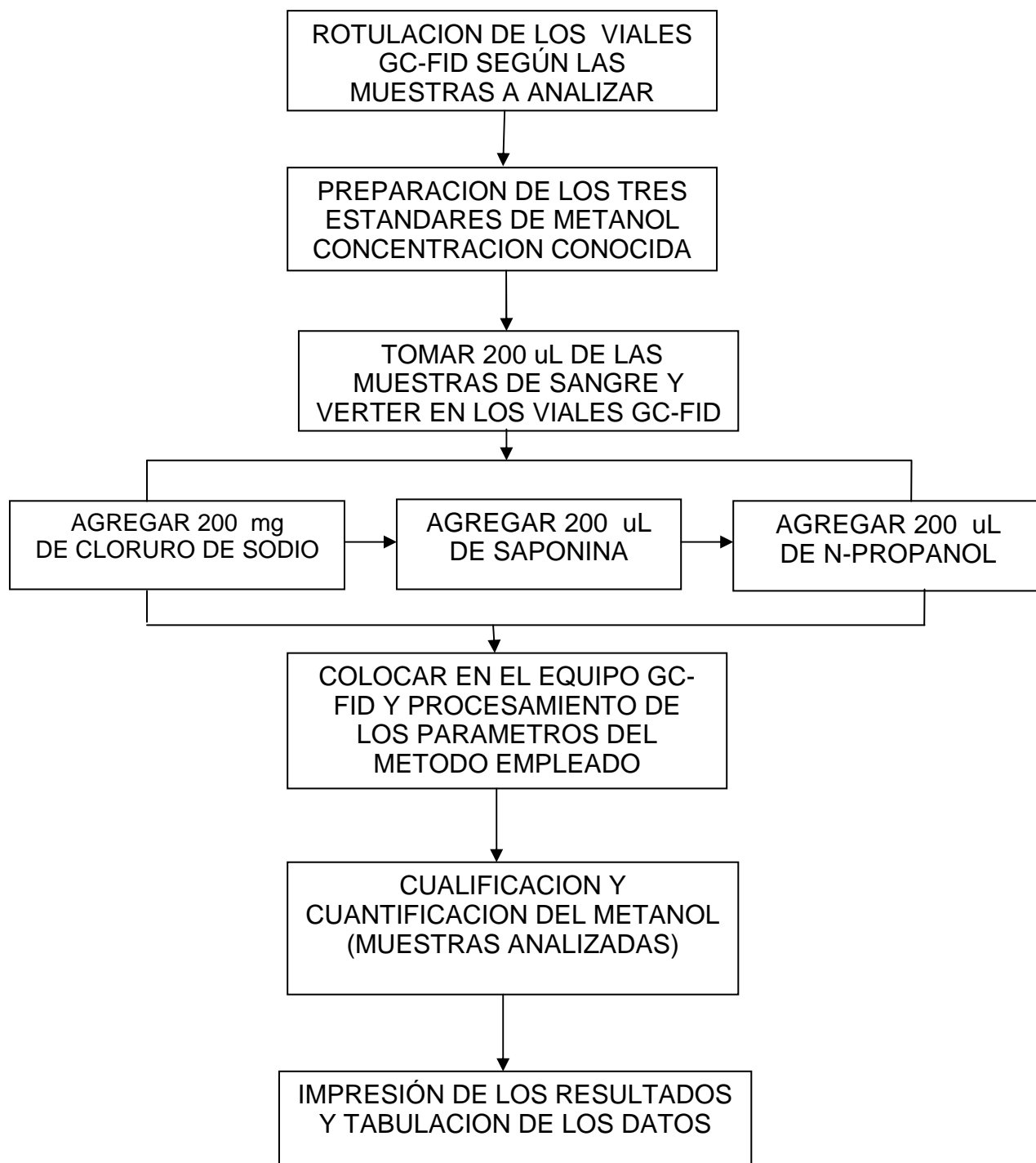
## ANEXO Nº 1

### FLUJOGRAMA DEL PROCESO DESDE LA TOMA DE MUESTRA HASTA LA OBTENCION DE LOS RESULTADOS



## ANEXO Nº 2

### FLUJOGRAMA DE PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS







## ANEXO Nº 4

### RESULTADOS DE LAS LECTURAS REALIZADAS EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN A LA LLAMA DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES.

Nº		Resultado 01	Resultado 02	Resultado 03	Resultado 04
1	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:18 a.m.	10:40a.m.	11:10a.m.	12:35 p.m.
2	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	11:15 a.m.	13:05 p.m.	14:20 p.m.	16:30 p.m.
3	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:45 a.m.	11:15 a.m.	13:10 p.m.	15:40 p.m.
4	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,070 g/L
	Hora	08:45 a.m.	09:50 a.m.	11:30	13:40 p.m.
5	Concentración	0,007 g/L	0,003 g/L	0,002 g/L	0,001 g/L
	Hora	09:40 a.m.	10:40 a.m.	12:45p.m.	13:40 p.m.
6	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:15 a.m.	10:35 a.m.	12:15p.m.	13:00 p.m.
7	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:10 a.m.	10:50 a.m.	12:10p.m.	13:20 p.m.
8	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	10:15 a.m.	11:05a.m.	12:10p.m.	13:35 p.m.
9	Concentración	0,005 g/L	0,006 g/L	0,008 g/L	0,009 g/L
	Hora	10:10 a.m.	11:25 a.m.	12:25p.m.	13:15 p.m.
10	Concentración	0,002 g/L	0,003 g/L	0,006 g/L	0,008 g/L
	Hora	10:30 a.m.	11:05a.m.	12:25p.m.	13:10 p.m.
11	Concentración	0,309 g/L	0,310 g/L	0,317 g/L	0,341 g/L
	Hora	09:15 a.m.	10:10 a.m.	11:50a.m.	12:15 p.m.
12	Concentración	0,011 g/L	0,006 g/L	0,004 g/L	0,001 g/L
	Hora	10:25 a.m.	11:30 a.m.	12:30p.m.	13:20 p.m.
13	Concentración	0,004 g/L	0,005 g/L	0,007 g/L	0,009 g/L
	Hora	13:15 p.m.	14:20 p.m.	15:30 p.m.	16:35 p.m.
14	Concentración	0,002 g/L	0,003 g/L	0,004 g/L	0,006 g/L
	Hora	10:25 a.m.	11:50 a.m.	12:30p.m.	13:35 p.m.
15	Concentración	0,003 g/L	0,002 g/L	0,001 g/L	0,000 g/L
	Hora	10:05 a.m.	11:05 a.m.	12:25 p.m.	13:20 p.m.
16	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:25 a.m.	10:35 a.m.	11:20a.m.	12:35 p.m.
17	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	15:05 p.m.	16:15 p.m.	17:35 p.m.	18:20 p.m.
18	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:25 a.m.	10:15 a.m.	11:05a.m.	12:20 p.m.
19	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	12:25p.m.	13:10p.m.	14:35p.m.	15:40 p.m.
20	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	10:20 a.m.	11:10 a.m.	12:40p.m.	13:30 p.m.
21	Concentración	0,004 g/L	0,002 g/L	0,008 g/L	0,000 g/L
	Hora	14:15p.m.	15:55 p.m.	16:15 p.m.	17:20 p.m.
22	Concentración	0,001 g/L	0,001 g/L	0,001 g/L	0,001 g/L

	Hora	07:25 a.m.	08:15 a.m.	10:00a.m.	11:20 a.m.
23	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	12:05 p.m.	13:50p.m.	14:40 p.m.	15:40 p.m.
24	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:25 a.m.	10:10 a.m.	11:05a.m.	12:35 p.m.
25	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	14:25p.m.	15:15 p.m.	16:30 p.m.	17:50 p.m.
26	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	22:25 p.m.	23:40 p.m.	02:20a.m.	03:35 a.m.
27	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	20:15 p.m.	21:40 p.m.	22:20p.m.	23:05p.m.
28	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	11:25 a.m.	12:10 p.m.	13:30 p.m.	14:25 p.m.
29	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	15:25a.m.	16:30 p.m.	17:45 p.m.	18:30 p.m.
30	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	12:35 p.m.	13:05p.m.	14:20 p.m.	15:15 p.m.
31	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	15:05p.m.	16:50p.m.	17:55 p.m.	18:25 p.m.
32	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	23:25 p.m.	00:40a.m.	01:50 a.m.	02:10 a.m.
33	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	15:05p.m.	16:55p.m.	17:25 p.m.	18:05 p.m.
34	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	08:05 a.m.	09:10 a.m.	10:20a.m.	11:00a.m.
35	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	20:45 p.m.	21:20 p.m.	22:20 p.m.	23:25 p.m.
36	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	20:35 p.m.	21:30p.m.	22:45p.m.	23:35p.m.
37	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	12:05 a.m.	01:30 a.m.	02:35 a.m.	03:15 a.m.
38	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	07:45 a.m.	08:25 p.m.	09:10a.m.	10:40 a.m.
39	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	20:15 p.m.	21:10 p.m.	22:20 p.m.	23:05 p.m.
40	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	16:15 p.m.	17:40 p.m.	18:20 p.m.	19:05 p.m.
41	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	12:25p.m.	13:20p.m.	14:10 p.m.	15:40 p.m.
42	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	09:30 a.m.	10:20a.m.	11:10a.m.	12:50 p.m.
43	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	17:15 p.m.	19:10 p.m.	20:40 p.m.	22:05 p.m.
44	Concentración	0,004 g/L	0,003 g/L	0,000 g/L	0,003 g/L
	Hora	18:15 p.m.	19:10 p.m.	20:20 p.m.	21:05 p.m.
45	Concentración	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L	0,000 g/L
	Hora	13:25p.m.	14:30p.m.	15:20 p.m.	16:20 p.m.

## ANEXO Nº 5

**RESULTADOS DE LA LECTURA REALIZADA EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN A LA LLAMA DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES DE LIMA: AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN.**

Nº		Resultado 01	Resultado 02	Resultado 03	Resultado 04
09	Concentración	0,005 g/L	0,006 g/L	0,008 g/L	0,009 g/L
	Hora	10:10 a.m.	11:25 a.m.	12:25p.m.	13:15 p.m.
10	Concentración	0,002 g/L	0,003 g/L	0,006 g/L	0,008 g/L
	Hora	10:30 a.m.	11:05a.m.	12:25p.m.	13:10 p.m.
11	Concentración	0,309 g/L	0,310 g/L	0,317 g/L	0,341 g/L
	Hora	09:15 a.m.	10:10 a.m.	11:50a.m.	12:15 p.m.
13	Concentración	0,004 g/L	0,005 g/L	0,007 g/L	0,009 g/L
	Hora	13:15 p.m.	14:20 p.m.	15:30 p.m.	16:35 p.m.
14	Concentración	0,002 g/L	0,003 g/L	0,004 g/L	0,006 g/L
	Hora	10:25 a.m.	11:50 a.m.	12:30p.m.	13:35 p.m.

## ANEXO Nº 6

**RESULTADOS DE LA LECTURA REALIZADA EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN A LA LLAMA DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES DE LIMA: DISMINUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN.**

Nº		Resultado 01	Resultado 02	Resultado 03	Resultado 04
5	Concentración	0,007 g/L	0,003 g/L	0,002 g/L	0,001 g/L
	Hora	09:40 a.m.	10:40 a.m.	12:45p.m.	13:40 p.m.
12	Concentración	0,011 g/L	0,006 g/L	0,004 g/L	0,001 g/L
	Hora	10:25 a.m.	11:30 a.m.	12:30p.m.	13:20 p.m.
15	Concentración	0,003 g/L	0,002 g/L	0,001 g/L	0,000 g/L
	Hora	10:05 a.m.	11:05 a.m.	12:25 p.m.	13:20 p.m.

## ANEXO N° 7

**RESULTADOS DE LA LECTURA REALIZADA EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN A LA LLAMA DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES DE LIMA: VARIACIÓN IRREGULAR DE LA CONCENTRACIÓN.**

Nº		Resultado 01	Resultado 02	Resultado 03	Resultado 04
21	Concentración	0,004 g/L	0,002 g/L	0,008 g/L	0,000 g/L
	Hora	14:15p.m.	15:55 p.m.	16:15 p.m.	17:20 p.m.
44	Concentración	0,004 g/L	0,003 g/L	0,000 g/L	0,003 g/L
	Hora	18:15 p.m.	19:10 p.m.	20:20 p.m.	21:05 p.m.

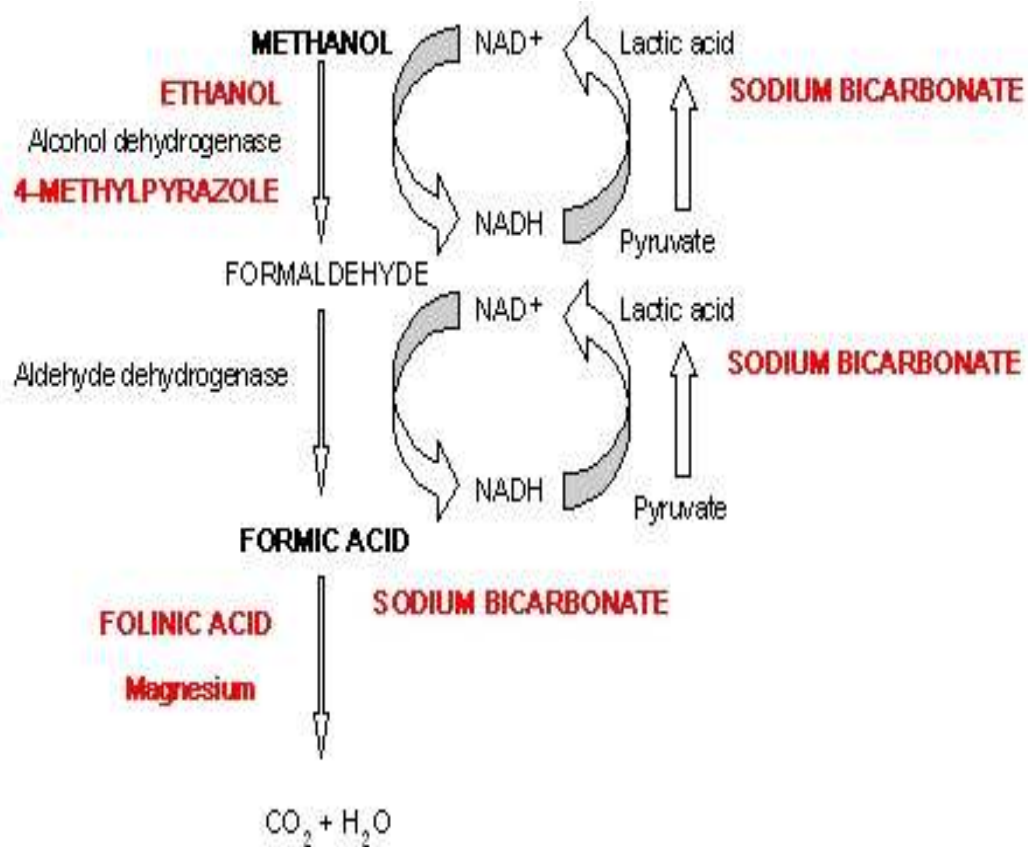
## ANEXO N° 8

**RESULTADOS DE LA LECTURA REALIZADA EN EL CROMATÓGRAFO DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN A LA LLAMA DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA Y QUÍMICA LEGAL DEL INSTITUTO DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS FORENSES DE LIMA: NO PRESENTA VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN.**

Nº		Resultado 01	Resultado 02	Resultado 03	Resultado 04
22	Concentración	0,001 g/L	0,001 g/L	0,001 g/L	0,001 g/L
	Hora	07:25 a.m.	08:15 a.m.	10:00a.m.	11:20 a.m.

## ANEXO Nº 9

### TOXICIDAD DEL METANOL



## **ANEXO Nº 10**